DIE ONTOGENESE DER HYDROSTATISCHEN WASSERPERMEABILITÄT DES ILEUMS

STUDIEN AN PERFUNDIERTEN DARMSEGMENTEN DER RATTE BEI INTAKTER BLUTVERSORGUNG

Josef Wisser

1980

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. K. Thurau

Die Ontogenese der hydrostatischen Wasserpermeabilität des Ileums

Studien an perfundierten Darmsegmenten der Ratte bei intakter Blutversorgung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Josef Wisser
aus
Bad Oberdorf

München, 1980

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Horster

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. K. Thurau

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14. November 1980

UNIV. LEIDEN BIBL.

M E I N E N E L T E R N

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535726_0057

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

I. Einführung ..... Seite 7

A. Geschichtliches
B. Gegenwärtige Vorstellungen über die Volumenresorption des Ileums
C. Die Bedeutung der hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeit L_p^{hy} innerhalb des Mechanismus der intestinalen Volumenresorption
D. Problemstellung der Arbeit

II. Methodik ..... Seite 15

A. Versuchstiere
B. Narkose
C. Präparation
D. Beschreibung der Perfusionsanordnung
E. Darmpräparation
F. Versuchsablauf
G. Lösungen und Materialien
H. Bezugsgrößen

III. Ergebnisse ..... Seite 24

A. Bezugsgrößen
B. Vergleich der Ein- und Ausstrommenge von Inulin bzw. ^{14}C-PEG 4000 - "Recoverystudien"
C. Volumenresorption unter Freiflußbedingungen
D. Die hydrostatische, hydraulische Leitfähigkeit L_p^{hy}

IV. Diskussion ..... Seite 35

A. Methode
B. Ergebnisse

V. Anhang ..... Seite 43

VI. Zusammenfassung ..... Seite 46

VII. Literaturverzeichnis ..... Seite 47

Danksagung

Lebenslauf

I. E I N L E I T U N G

A. Geschichtliches

Die Frage nach dem Einfluß des intraluminalen hydrostatischen Druckes auf die Volumenresorption im Dünndarm spielte eine entscheidende Rolle bei der Erforschung des intestinalen Resorptionsmechanismus. Lieberkühn nahm 1747 in seiner Dissertation "De fabrica et actione villorum..." an, daß die Peristaltik sowohl Flüssigkeiten als auch feste Teilchen in die von ihm postulierten präformierten Öffnungen zwischen den Darmzotten presst und damit zur Resorption führt (30). Diese Vorstellungen Lieberkühns konnten 1896 durch Hamburger mittels einer Sackpräparation am Dünndarm des Hundes bestätigt werden (20). Mit diesen Versuchen wurde erstmals gezeigt, daß die intestinale Resorption vom intraluminalen Druck abhängig ist. Dieses Ergebnis führte zu der Hypothese, daß die intestinale Resorption im wesentlichen durch den intraluminalen Druck bedingt sei. Der Resorptionsvorgang wurde gewissermaßen als Filtrationsprozeß gedeutet. Dieser Annahme standen die Arbeiten von Heidenhain aus dem Jahre 1894 entgegen, der seinerseits forderte, "dass bei der Darmresorption stets eine der Darmwand selbst entstammende Triebkraft thätig ist, welche unter bestimmten Bedingungen allein, unter bestimmten andern in Combination mit osmotischen Triebkräften wirksam wird" (22). Über das Wesen dieser von Heidenhain erstmals eingeführten "physiologischen Triebkraft" spekulierte er nur und schreibt sie dem Darmepithel zu.

Somit standen sich zu Beginn des 20. Jahrhunderts die Filtration, die Osmose und die physiologische Triebkraft als Kräfte der intestinalen Resorption gegenüber, deren zwei, nämlich die Filtration und die Osmose, durch Anwendung der von Starling 1896 am Gefäßsystem erarbeiteten Hypothese (46) auf den Darm, 1899 von Cohnheim zu einem Modell vereint werden konnten (7).

Erst nachdem es Visscher 1944 gelungen war, mit Hilfe radioaktiv markierter Substanzen, unidirektionale Wasser- und Elektrolytflüsse über das Darmepithel zu messen (50), waren die Voraussetzungen geschaffen, den Mechanismus der Volumenresorption aufzuklären.

Gegen Ende des vergangenen Jahrhunderts wurde erstmals versucht, den Weg des Resorbates über die Darmwand experimentell nachzuweisen. Mit Hilfe der Resorption von Methylenblau kam Heidenhain 1888 zu dem Schluß, daß die intraluminale Flüssigkeit sowohl über einen trans- als auch einen parazellulären Weg resorbiert wird (21). In ähnlicher Weise ergab die Resorption von Molybdat durch Höber im Jahre 1901 Anhalte für eine parazelluläre Resorption auch dieser Substanz (23).

B. Gegenwärtige Vorstellungen über die Volumenresorption des Ileums

Die heutige Auffassung über die Volumenresorption des Ileums basiert im wesentlichen auf den Untersuchungen Curran's, der zeigen konnte, daß der intestinale Volumentransport durch den aktiven Na^+-Transport der Zelle bedingt ist und daher vom zellulären Stoffwechsel abhängig ist (9,10). Die bisher bekannten Daten zur ilealen Volumenresorption lassen sich an einem Modell darstellen, das anhand der Abb.1 erläutert werden soll.

Der aktive Na^+-Transport ist durch zwei verschiedene Transportsysteme bedingt, die an unterschiedlichen Orten der Zellmembran lokalisiert sind (39). Es ist dies einerseits ein an der Bürstensaummembran lokalisiertes, durch Phlorizin hemmbares Na^+-Transportsystem, das zusammen mit den osmotischen und elektrischen Kräften, die über die Bürstensaummembran wirken, einen Na^+-Einstrom von 18 $\mu mol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ in die Zellen bedingt (16,41, 43). An diese Na^+-Bewegung ist ein Transport von Glukose und Aminosäuren gekoppelt, die entgegen ihrem Konzentrationsgefälle in die Zelle aufgenommen werden (41,48). Die elektrochemische Potentialdifferenz von Na^+ über die luminale Zellmembran wird durch die an der basolateralen Membran gelegene Na^+-K^+-aktivierbare ATPase aufrecht erhalten. Dieses Enzymsystem ist ausschließlich an der basolateralen Membran lokalisiert (35); es ist gleichmäßig entlang dieser Membran verteilt (47) und kann spezifisch durch Ouabain gehemmt werden (39). Die Energie für den Na^+-Ausstrom entstammt somit dem Stoffwechsel der Zelle,

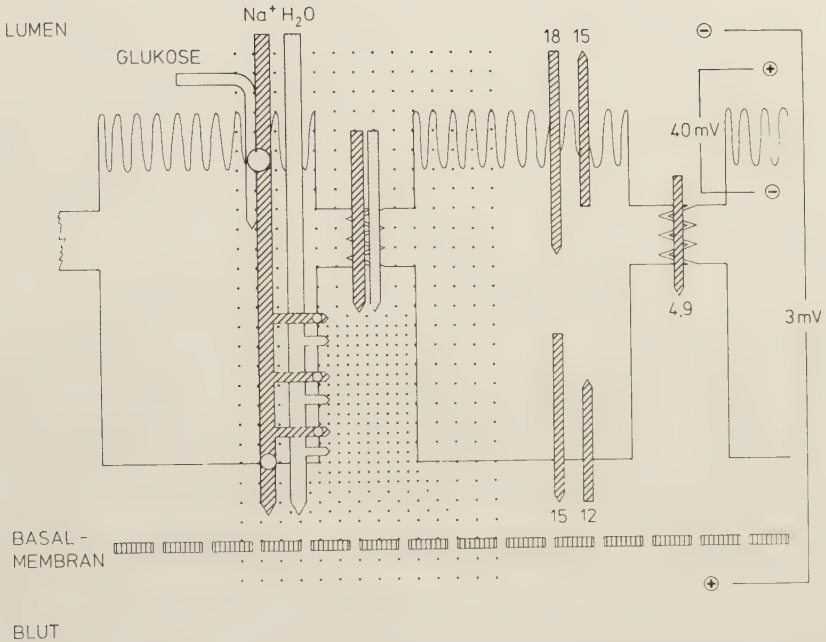


Abb.1 Schematische Darstellung der gegenwärtigen Vorstellungen über den Volumentransportmechanismus am Ileum.
Links eine Skizze der treibenden Kräfte des transzellulären und parazellulären Volumenflusses, modifiziert nach Sackin (38) und Schultz (42). Die Punktedichte gibt ein Maß der Osmolarität. Im rechten Teil der Skizze sind die wichtigsten Daten des trans- und parazellulären Na^+-Transportes am Ileum quantitativ zusammengefaßt (16,36,41,42). Die Na^+-Flüsse sind in $\mu mol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ angegeben.

während für den gekoppelten Natrium- und Substrattransport phänomenologisch die elektrochemische Potentialdifferenz für Na^+-Ionen als treibende Kraft hinreichend ist (1). Damit macht die basolaterale Bereitstellung zellulärer Energie auch die treibenden Kräfte verfügbar, welche für den luminalen Substrattransport erforderlich sind. Dieser aktive Na^+-Transport über den transzellulären Weg bewirkt, daß der basolaterale Raum geringfügig hyperton gegenüber der intraluminalen Flüssigkeit wird, von der er durch die Interzellularbrücken ("tight junctions") getrennt ist. Messungen der unidirektionalen Ionenflüsse von Na^+, Cl^- und K^+ in vitro bei konstantem transepithelialem Potential ("voltage-clamp") ließen es zu, die auf Diffusion beruhenden Flüsse ${}_oI_d^i$ dieser Teilchen über die Interzellularbrükken bei einer transepithelialen Potentialdifferenz von Null zu berechnen (16). Die Werte dieser auf Diffusion beruhenden Ionenflüsse in $\mu mol \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1}$ betrugen danach für Na^+ ${}_oI_d^{Na} = 4{,}9$, für Cl^- ${}_oI_d^{Cl} = 2{,}8$ und für K^+ ${}_oI_d^{K} = 0{,}48$ (16). Da diese Werte für eine transepitheliale Potentialdifferenz von Null gelten, sind sie numerisch mit der Ionenleitfähigkeit G_i $[mmho \cdot cm^{-2}]$ identisch (40,48).

Ein Vergleich der Gesamtleitfähigkeit des Epithels, die als 10 $mmho \cdot cm^{-2}$ $[10\ mA \cdot V^{-1} \cdot cm^{-2}]$ bestimmt wurde, mit der Summe der Ionenleitfähigkeiten für Na^+, Cl^- und K^+ zeigt, daß mindestens 85 % der Gesamtleitfähigkeit der Mukosa des Ileums durch die Leitfähigkeit eines parazellulären Weges über die Interzellularbrücken bedingt ist (16).

Dieser Befund einer interzellulären Ionenleitfähigkeit wird durch morphologische Untersuchungen mittels der Gefrierbruchtechnik an den Interzellularbrücken des Intestinums gestützt. Sie ergaben, daß die Zellkontakte aus einem Netzwerk von Graten bestehen, denen ein spiegelbildliches System von Rinnen der gegenüberliegenden Zellbrücke entspricht (5,33). Diese feinen Verzahnungen der Zellen, deren Anzahl eng mit dem transepithelialen elektrischen Widerstand korreliert ($r=0{,}93$), stellen keine absoluten Permeationsbarrieren für Wasser und Elektrolyte dar. Vielmehr sind sie nach einem Modell von Claude (6) von Poren durchsetzt, die sich nach Zufallsgesetzen öffnen und schließen.

Somit sind sowohl durch den osmotischen Druckgradienten zwischen intestinalem Lumen und basolateralem Raum, wie auch durch die Eigenschaften der Interzellularbrücken die Voraussetzungen geschaffen, daß ein Volumenfluß über den parazellulären Weg erfolgen kann. Trotz der lokalen intraepithelialen osmotischen Gradienten ist das Resorbat des Ileums plasmaisoton (9). Dies erklärt sich daraus, daß der effektive osmotische Druck über eine Membran, die für gelöste Teilchen durchlässig ist, sich berechnet aus $\sigma \cdot R \cdot T \cdot \Delta C$, wobei ΔC die Konzentrationsdifferenz des Teilchens über die "tight junction" darstellt, R die Gaskonstante, T die absolute Temperatur und σ den Stavermann'schen Reflexionskoeffizienten bezeichnen. Der Wert für σ kann zwischen 1 für impermeable Teilchen und 0 für Teilchen, die in freiem Diffusionsaustausch stehen, sein.

Unter der Annahme, daß die Basalmembran der Darmzelle für Wasser und Elektrolyte keine Permeationsbarriere darstellt, d. h. σ annähernd Null erreicht, wird durch den osmotischen Volumenfluß über die Interzellularbrücken ein hydrostatischer Druck im basolateralen Raum erzeugt, der den Endstreckentransport des Volumens in den Kapillarraum bedingt.

Die experimentellen Befunde aus neuerer Zeit lassen die Hypothese Curran's (10) von einem Drei-Kompartiment-Modell der intestinalen Resorption in neuem Licht erscheinen. Seine theoretischen Arbeiten an zwei in Serie geschalteten artefiziellen Membranen mit unterschiedlichen Reflexionskoeffizienten (11) wurden nunmehr durch Ergebnisse morphologischer und funktioneller Studien auf die wirklichen Verhältnisse am Intestinum übertragbar.

Hierbei entspricht der interzelluläre Spaltraum, dessen Strukturänderungen in Abhängigkeit von unidirektionalen Wasserflüssen nachgewiesen wurden (31), dem von Curran (10) angegebenen Kompartiment B, das er noch als eine komplexe Membran beschrieb. In dieser Membran konnte die Pore r_1, die für Curran entscheidende Struktur, als die Interzellularbrücke verifiziert werden.

C. Die Bedeutung der hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeit L_P^{hy} innerhalb des Mechanismus der intestinalen Volumenresorption

Der Volumenfluß über den parazellulären Weg gehorcht den Kräften, welche für die transepitheliale Diffusion verantwortlich sind. Damit kann neben dem osmotischen Gradienten auch ein transepithelialer, hydrostatischer Gradient Bedeutung für den parazellulären Volumenfluß erlangen. An allen bisher untersuchten transportierenden Epithelien zeigt sich jedoch, daß die Wasserleitfähigkeit desselben Epithels in Abhängigkeit von transzellulären, osmotischen oder hydrostatischen Gradienten unterschiedlich ist (28,49). Die Meßwerte der L_P^{hy} sind um ein Vielfaches höher als die Werte für die L_P^{osm} des entsprechenden Epithels.

Dieser Unterschied ist bedingt zum einen dadurch, daß ein osmotischer Gradient ungemischte Phasengrenzen am Epithel ("unstirred-layers") erzeugt, die auch durch beste Mischungsbedingungen nicht aufzulösen sind und somit zusätzlich den Volumentransport beeinflussen (49). In dieser ungemischten Phase bildet sich durch Teilchendiffusion ein neuer osmotischer Gradient aus, der nicht gemessen werden kann. Um diesen Gradienten reduziert sich der meßbare osmotische Gradient zum effektiven transepithelialen, osmotischen Gradienten (54). Unter Berücksichtigung des effektiven osmotischen Gradienten werden die berechneten osmotischen Leitfähigkeiten also zu niedrig angegeben. Zum anderen ist der Unterschied zwischen L_P^{hy} und L_P^{osm} dadurch bedingt, daß beide Kräfte einen Volumenfluß auf unterschiedlichen Wegen hervorrufen. Von luminal her induzierte transmurale, hydrostatische Gradienten führen zu einem erhöhten isosmotischen Volumenfluß, der, abhängig von der Wasserleitfähigkeit, im wesentlichen über den parazellulären Transportweg verläuft (49).

D. Problemstellung der vorliegenden Arbeit

Die Entwicklungsphysiologie epithelialer, transportierender Zellen hat im vergangenen Jahrzehnt an Bedeutung gewonnen, seit es gelungen war, Methoden, die für die Untersuchung reifer Gewebe Verwendung fanden, auf die Dimensionen differenzierender Epithelien zu übertragen. So gelang es auch, den Mechanismus der isosmotischen Volumenresorption am Nierentubulus während der postnatalen Differenzierung durch Perfusionsstudien in situ und in vitro sehr detailiert aufzuklären (25,26,27,29,56). Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine Methode zu entwickeln, die es gestattet, die intestinale Volumenresorption bei intakter vaskulärer Versorgung des differenzierten Darmepithels zu messen und diese Methode auf die Untersuchung des differenzierenden Gewebes zu übertragen. Gleichzeitig und unabhängig voneinander wurden an unterschiedlichen Präparationen des Intestinums passive Epitheleigenschaften während der postnatalen Entwicklung untersucht (8,53,55).

Die elektrische Leitfähigkeit, G_T, des ilealen Mukosastreifens betrug beim differenzierenden Epithel 55 $mmho \cdot cm^{-2}$ (55 $mA \cdot V^{-1} \cdot cm^{-2}$) und sank auf 30 $mmho \cdot cm^{-2}$ (30 $mA \cdot V^{-1} \cdot cm^{-2}$) beim differenzierten Epithel (8).

Aus Daten am perfundierten Ileum (55) läßt sich die osmotische Leitfähigkeit L_p^{osm} des differenzierenden Gewebes zu $21{,}4 \cdot 10^{-3}$ $ml \cdot gWW^{-1} \cdot h^{-1} \cdot mosm^{-1}$ und von differenziertem Epithel zu $9{,}78 \cdot 10^{-3}$ $ml \cdot gWW^{-1} \cdot h^{-1} \cdot mosm^{-1}$ berechnen.

Sowohl die elektrische als auch die osmotische Leitfähigkeit läßt aber eine Entscheidung darüber nicht zu, welcher der beiden Transportwege - der transzelluläre oder der parazelluläre - für die Änderung der transepithelialen Leitfähigkeiten verantwortlich ist. Aufgrund der Ausführungen in Kap. I. C. beschreibt die transzelluläre, hydrostatische Wasserleitfähigkeit im wesentlichen die Größe des parazellulären Volumentransportes. Deshalb sollte die Größe L_p^{hy} während der Ontogenese, unter der Voraussetzung konstanter zellulärer Leitfähigkeiten, ein Maß für die Entwicklung der Wasserleitfähigkeit des parazellulären Transportweges geben. Weiterhin kann durch die direkte Bestimmung

dieser hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeit der Einfluß des intraluminalen Druckes auf die Volumenresorption quantifiziert werden. Damit sollten die bisherigen, jedoch gegensätzlich interpretierten Ergebnisse zur Frage der Abhängigkeit des Volumenflusses vom hydrostatischen, intraluminalen Druck überprüft werden. Verschiedene Autoren schrieben dem intraluminalen Druck keine Bedeutung für die Volumenresorption am Dünndarm zu (14,45,19), während andere Studien (51,3,12) einen deutlichen Einfluß des intraluminalen Druckes auf die intestinale Volumenresorption des differenzierten Gewebes beschrieben haben. Daten zur Ontogenese der L_p^{hy} des Intestinums liegen bisher nicht vor.

II. M E T H O D I K

A. Versuchstiere

Zur Durchführung der Versuche wurden zwei Gruppen von Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts verwendet. Die Gruppe I, differenziertes Darmepithel, bildeten Ratten mit einem Körpergewicht zwischen 140 und 160 Gramm, während in Gruppe II, differenzierendes Darmepithel, Ratten mit einem Körpergewicht zwischen 40 und 60 Gramm bei einem Alter von 12 bis 15 Tagen untersucht wurden. Die Tiere der Gruppe I wurden mit Altromin Trockenfutter in Pulverform gefüttert und während der 24 Stunden vor Beginn des Versuchs bei freiem Zugang zu 5%iger Glukoselösung ohne Futter gehalten,um eine möglichst vollständige Entleerung des Dünndarms von festen Kotbestandteilen zu erreichen. Demgegenüber wurden die Tiere der Gruppe II während der 15 Stunden vor Versuchsbeginn ohne Zugang zu fester Nahrung bei 5%iger Glukoselösung ad libitum gehalten. Zur Durchführung der Experimente wurden nur Versuchstiere aus veterinärmedizinisch einwandfreien Beständen herangezogen.

B. Narkose

Die Tiere der Gruppe I wurden durch eine intraperitoneale Injektion von 100 mg/kg Körpergewicht Inactin^{R} (Na-Äthyl-5-(1'-methylpropyl)-2-thiobarbitursäure) narkotisiert. Da die therapeutische Breite dieser Inactinnarkose bei intraperitonealer Applikation bei den Tieren der Gruppe II sehr gering ist, wurde eine intraperitoneale Injektion von 30 mg/kg Körpergewicht Nembutal^{R} (Pentobarbital-Natrium) zur Einleitung der Anaesthesie verwendet. Nembutal^{R} wird jedoch im Gegensatz zu Inactin^{R} metabolisiert, so daß eine intravenöse Erhaltungsdosis von 1,5 mg/kg Körpergewicht und Stunde notwendig war, um die Narkosetiefe zu erhalten.

C. Präparation

Wegen der eingeschränkten Wärmeregulation der Versuchstiere in Narkose wurden die Tiere auf einem heizbaren Mikropunktionstisch operiert, wie dies in früheren Arbeiten der Arbeitsgruppe (24, 53) beschrieben wurde. Die rektale Temperatur des Versuchstieres konnte mittels eines Sekundenthermometers kontinuierlich gemessen und durch die regulierbare Wärmezufuhr zwischen 37°C und 38°C konstant gehalten werden. Zunächst wurde eine Tracheotomie durchgeführt und durch Einführen eines Polyäthylentubus eine Absaugmöglichkeit geschaffen, um eine Beeinträchtigung der Ventilation des Tieres durch Trachealsekret zu verhindern.

Danach wurde die rechte Vena jugularis externa freipräpariert und mit einem dünnen Polyäthylenkatheter kanüliert. Über diesen venösen Zugang konnten Wasser- und Elektrolytverluste, die während des Versuchs auftraten, ausgeglichen werden. In der Versuchsgruppe I diente dazu eine Infusion mit der Lösung B von 1,0 ml/h, während in der Gruppe II 0,35 ml/h Lösung B und Nembutal^{R} in der oben angegebenen Dosierung infundiert wurde. Anschließend wurde in der rechten Leistenregion die Arteria femoralis aufgesucht, freipräpariert und mit einem heparinisierten Polyäthylenkatheter kanüliert. Dieser Katheter wurde an einen Druckwandler (Statham) angeschlossen, dessen Impulse über einen Verstärker (Hellige) sichtbar gemacht wurden, so daß der arterielle Druck als ein Parameter des Allgemeinzustandes des Versuchstieres kontinuierlich registriert werden konnte.

D. Beschreibung der Perfusionsanordnung

Um Perfusionsstudien am gefäßversorgten Ileum durchführen zu können, wurde eine Versuchsanordnung entwickelt, die in Abb.2 in einem schematisierten Längsschnitt wiedergegeben ist. Das Darmsegment wurde in einer aus Plexiglas gefertigten Darmschale gelagert, deren Boden mit Hilfe einer Durchflußheizung so erwärmt wurde, daß eine konstante Temperatur der Badlösung von 37,5°C gewährleistet war. Die Sylgard-Haltestutzen waren in der Darmkammer durch eine Gummiringabdichtung horizontal verschieblich,

IN VITRO PERFUSION DES NICHT ISOLIERTEN DÜNNDARMSEGMENTES

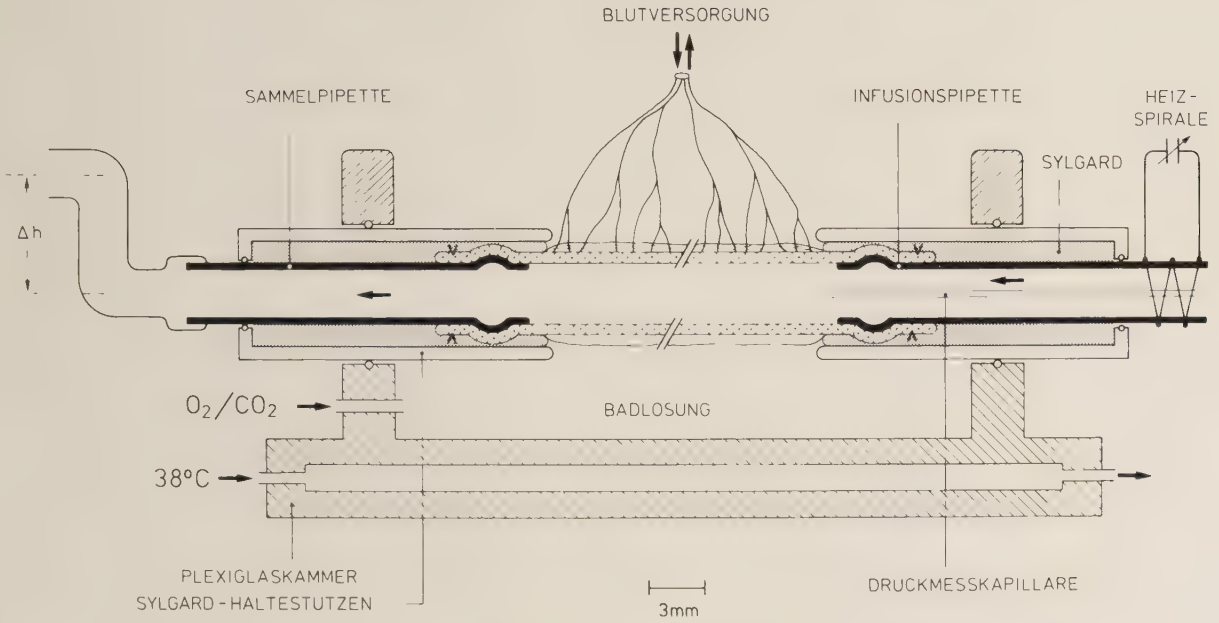


Abb. 2 Schematischer Längsschnitt durch die Perfusionsanordnung

Maßstabsgetreue Abbildung des Anschlußstücks zur Fixierung der Meßkapillare

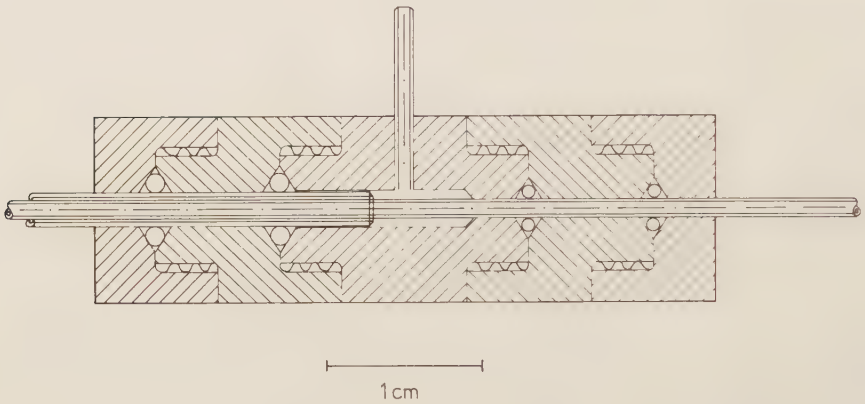


Abb.3 Maßstabsgetreue Abbildung des Anschlußstücks zur Fixierung der Meßkapillare in der Infusionspipette.

ebenso wie die Darmhaltepipetten innerhalb der Sylgard-Haltestutzen. Wie aus der Abb.2 ersichtlich ist, wurde um die Infusionspipette eine Heizspirale aus Titandraht (Durchmesser 0,13 cm) zur Vorwärmung der Perfusionslösung auf 37°C gelegt. Mittels der in Abb.3 dargestellten Anordnung konnte eine Meßkapillare koaxial durch die Infusionspipette in das Darmlumen eingeführt werden. Auf diese Weise konnte der intraluminale, hydrostatische Druck auf einen Druckwandler (Statham) übertragen und dessen Impulse nach Verstärkung (Hellige) auf einem Schreiber (Metrawatt) kontinuierlich registriert werden.

Um einen erhöhten intraluminalen Druck zu erzeugen, wurde bei konstanter Perfusionsrate ein mit der Sammelpipette verbundener Katheter auf ein stufenlos verstellbares Sammelniveau gehoben. Damit lastete nach dem Prinzip der kommunizierenden Röhren auf

der intraluminalen Flüssigkeit eine Flüssigkeitssäule, deren Höhe aus der Differenz Δh zwischen Sammelniveau und Sammelpipette bestand.

E. Darmpräparation

Durch einen ca. 2 cm langen rechtsseitigen, pararektalen Bauchschnitt wurde der Bauchraum eröffnet, wobei auf eine exakte Blutstillung geachtet wurde. Mit zwei watteumwickelten Pinzetten konnte dann ein großer Teil des Dünndarms vorsichtig aus dem Bauchraum in die rechts am Präparationstisch befestigte Darmschale verlagert werden, in der sich die Badlösung befand. Diese wurde von einem Gasgemisch, bestehend aus 95 % O_2 und 5 % CO_2, durchströmt und dadurch auf einem pH-Wert zwischen 7,35 und 7,45 konstant gehalten. Nun wurde, von der Ileozökalklappe ausgehend und zwischen 15 und 30 cm von ihr entfernt, ein etwa 10 cm langes, entleertes Stück des distalen Ileums aufgesucht und am proximalen und distalen Ende abgebunden. Jetzt konnte der proximale Teil des Ileums auf der mit Perfusionsflüssigkeit gefüllten Infusionspipette befestigt werden. Zunächst wurden distal der proximalen Abbindestelle und an der Infusionspipette Fadenschlingen vorbereitet. Nun wurde der Darm unmittelbar distal der Abbindestelle, jedoch proximal der vorbereiteten Fadenschlinge, mit einer watteumwickelten Pinzette gefaßt und zwischen Abbindestelle und Pinzette durchtrennt. Das freie Darmende konnte nun mit der Pinzette auf die doppelolivförmige Infusionspipette aufgezogen werden. Die proximale Olive war mit einem größeren Durchmesser so dimensioniert worden, daß das Darmstück aufgedehnt und somit eine Blutung verhindert wurde, bis die endgültige Fixierung des Darmstücks auf der Glaspipette mit den vorbereiteten Fadenschlingen erreicht wurde. Danach wurde der Sylgard-Haltestutzen bis etwa zur distalen Olive der Glaspipette vorgeschoben und mit Sylgard (Dow-Corning) aufgefüllt, welches zur Zähflüssigkeit gehärtet worden war. Nun wurde die distale Abbindestelle um 180° um den mesenterialen Gefäßstiel gedreht, so daß der zu perfundierende Darm in kreisförmiger Anordnung in der Darmschale zu liegen kam. Jetzt wurde das distale

Darmende, in gleicher Weise wie oben für das proximale beschrieben, auf die Sammelpipette aufgezogen. Der Darm, der nun in Schleifenform zwischen den beiden Pipetten in der Darmschale hing, wurde dann mit feuchtem Zellstoff stabilisiert, so daß seine Lage möglichst erhalten blieb und es nicht durch peristaltische Eigenbewegungen zu Knickbildungen und Abflußbehinderungen kommen konnte.

Die hier angewandte Technik der Darmpräparation ermöglichte es, nur solches Gewebe zu perfundieren, an dem nicht manipuliert worden war. Das möglicherweise bei der Blutstillung durch die Pinzette geschädigte Darmgewebe wurde durch die distal davon gelegten Ligaturen von der perfundierten Strecke ausgeschlossen. Durch das Vorschieben von Sylgard über diese Ligaturen bis zur distalen Olive wurde der Darm leicht gegen die distale Olive gedrückt und so auch eine ionale Abdichtung zwischen Lumen und Badlösung bei der geringst möglichen Gewebeschädigung erreicht.

Damit war die Länge des perfundierten Darmstücks exakt festgelegt; es reichte von der distalen Olive der Infusionspipette zur distalen Olive der Sammelpipette.

Für jeden präparativen Eingriff am Darm ist es wichtig, das Darmgewebe vor Austrocknung und Abkühlung zu schützen. Deshalb wurden alle präparativen Manipulationen in der auf 37,5°C temperierten und mit dem O_2/CO_2-Gemisch durchströmten Badlösung durchgeführt.

F. Versuchsablauf

Nun wurde der so eingespannte Darm mittels einer Perfusionspumpe (Unita II, Braun-Melsungen) kontinuierlich mit einer der unten aufgeführten Perfusionslösung durchströmt. Nach einer, entsprechend der Länge des Darms, 15 bis 20-minütigen Vorperfusionsphase mit Perfusionsraten von 3,75 ml/h zum Auswaschen auch kleinster Faecesteile aus dem Darmlumen, wurde das Ileum mit Perfusionsraten von 2,0 ml/h in Gruppe I und 1,5 ml/h in Gruppe II

perfundiert. In Perioden von 20 Minuten Dauer wurde das durch die Darmperistaltik in die Sammelpipette transportierte Volumen dort aufgefangen.

Bei Versuchen, in denen die Volumenresorption bei erhöhtem intraluminalen Druck untersucht werden sollte, wurde nach 3 Meßperioden unter Freiflußbedingungen, d. h. bei durch Peristaltik bedingtem intraluminalem Druck von 0,0 - 0,5 mmHg (0,0 - 66,7 Pa), das Sammelniveau dann auf 5 cm über das Niveau der Sammelpipette angehoben. Damit ergab sich nach dem Prinzip der kommunizierenden Röhren ein intraluminaler Druck von 5 cm H_2O (490,3 Pa), der über die Meßkapillare gemessen werden konnte.

Nach Abschluß eines jeden Versuchs wurde die Konzentration von Inulin bzw. ^{14}C-PEG 4000 in der Badlösung und im arteriellen Blut - Probenentnahme aus der Femoralarterie - gemessen, um einen eventuellen Übertritt dieser Substanzen in den interstitiellen Raum durch ein artefizielles Leck zu erfassen.

Das distal gesammelte Volumen wurde gravimetrisch bestimmt und die Osmolarität jeder Probe mit Hilfe eines Osmometers (Roebling) ermittelt. Ferner wurde die Konzentration von Inulin bzw. ^{14}C-PEG 4000 gemessen. Für das Inulin wurde eine kolorimetrische Methode (17) angewandt, während die Konzentration von ^{14}C-PEG 4000 in einem Szintillationszähler (Beckmann SC 8000) unter Verwendung von Aquasol (NEN) als Szintillationsflüssigkeit bestimmt wurde. Bei dieser Zählung lag die ^{14}C-PEG 4000 Konzentration 30- bis 40-fach über der unspezifischen Untergrundaktivität.

G. Lösungen und Materialien

Lösungen folgender Zusammensetzung wurden zur Durchführung der Versuche verwandt.

	Badlösung	Perfusions-lösung	Badlösung	Perfusions-lösung
	A	A_1	B	B_1
NaCl	115,0 mM	115,0 mM	115,0 mM	115,0 mM
$NaHCO_3$	25,0 mM	25,0 mM	25,0 mM	25,0 mM
KCl	5,0 mM	5,0 mM	5,0 mM	5,0 mM
Na-acetat	10,0 mM	10,0 mM	10,0 mM	10,0 mM
CaCl	1,0 mM	1,0 mM	1,0 mM	1,0 mM
$MgSO_4$	1,2 mM	1,2 mM	1,2 mM	1,2 mM
NaH_2PO_4	1,0 mM	1,0 mM	1,0 mM	1,0 mM
Glukose	-	-	5,5 mM	5,5 mM
Harnstoff	5,5 mM	5,5 mM	-	-
Inulin	-	25,0 µM	-	-
^{14}C-PEG 4000	-	-	-	5,0 µM

Inulin (Polyfructosan S, Molekulargewicht 3000) und ^{14}C-Polyethylenglykol (Molekulargewicht 4000) waren Präparationen der Laevosan-Gesellschaft, Linz bzw. der Fa. Amersham Buchler, Braunschweig. Alle anderen Chemikalien wurden von der Fa. Merck AG, Darmstadt bezogen.

Durch Zusatz von 0,1n HCl (3 ml/l) wurden alle Lösungen nach Durchströmung mit einem Gasgemisch, bestehend aus 95 % O_2 und 5 % CO_2, bei 37°C auf einen pH-Wert zwischen 7,35 und 7,45 eingestellt. Da zur Herstellung der Perfusionslösungen nur sehr geringe Mengen von nicht resorbierbarem Volumenmarker eingesetzt wurden, ergab sich bei allen Lösungen eine Osmolarität von 290 $\pm$ 5 mosm/l.

H. Bezugsgrößen

Im Anschluß an einen Versuch wurde das perfundierte Darmstück von den Darmhaltepipetten abgetrennt und entlang des Mesenterialansatzes eröffnet. Nun wurden zunächst Länge und Umfang des Darmstückes und, nach zweimaligem Abtupfen mit Zellstoff, das Feuchtgewicht WW bestimmt. Nach 24-stündigem Trocknen im Wärmeschrank bei 45°C konnte dann das Trockengewicht DW ermittelt werden.

Aus dem Produkt aus Länge und Umfang des Darmstückes wurde die Fläche des Darmes A bestimmt, die proportional zur effektiv resorbierenden Darmfläche ist (32).

III. E R G E B N I S S E

A. Bezugsgrößen

In einer Vorversuchsserie wurde ein System von Bezugsgrößen aufgestellt, um die in der Literatur angegebenen Daten mit denen der hier vorgelegten Arbeit in Beziehung setzen zu können. In dieser Arbeit wurden alle Daten auf das Trockengewicht bezogen, welches nicht, wie etwa das Feuchtgewicht, die Fläche oder die Länge, abhängig ist von den Manipulationen im Anschluß an den Versuch. Auf Grund dieser Überlegungen findet die Bezugsgröße Trockengewicht in immer weiterem Umfang in die neuere Literatur Eingang. Die Abb.4 zeigt die Standardbezugsgröße Trockengewicht in Korrelation zu den zusätzlich gemessenen Größen Feuchtgewicht, Darmfläche und Darmlänge.

Aus der Abb.4 geht hervor, daß die Korrelation zwischen Trokken- und Feuchtgewicht mit einem Korrelationskoeffizienten von r=0,98 sehr hoch ist, was auf einen geringen zufälligen Meßfehler bei der Bestimmung des Feuchtgewichtes schließen läßt. Demgegenüber sind die Korrelationskoeffizienten der Beziehungen Trockengewicht-Darmfläche und Trockengewicht-Darmlänge mit r=0,84 bzw. r=0,85 weit niedriger, was den größeren zufälligen Meßfehler bei der Bestimmung von Darmfläche und Darmlänge zum Ausdruck bringt.

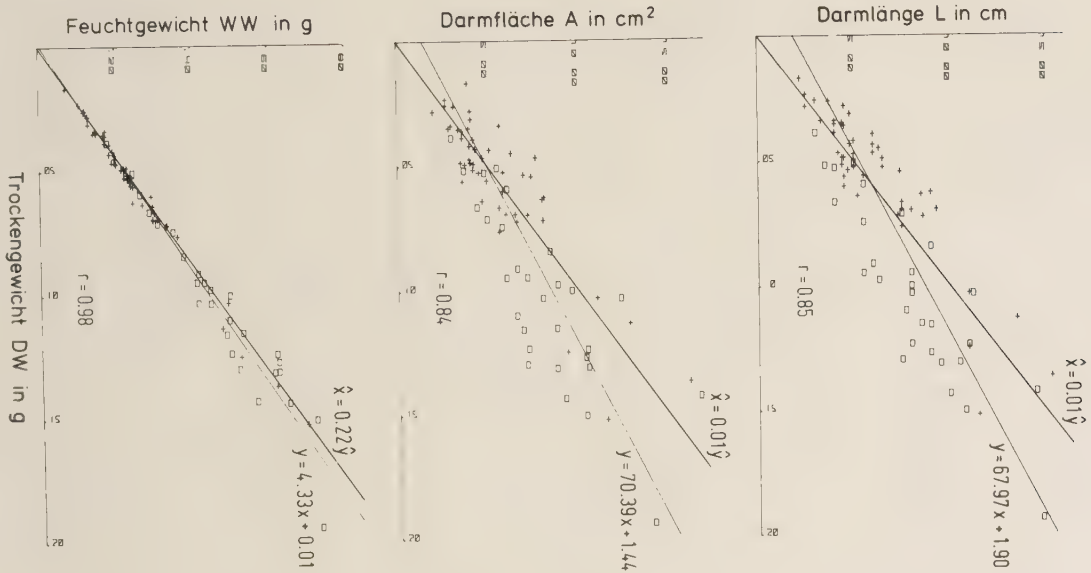
Die im späteren Kap.III. D. für die Leitfähigkeitsberechnung benötigte Darmfläche wurde deshalb mit Hilfe der Regressionsgeraden $y=70,39 \cdot x + 1,44$ unter Berücksichtigung des Trockengewichtes bestimmt.

B. Vergleich der Ein- und Ausstrommenge von Inulin bzw. ^{14}C-PEG 4000 - "Recoverystudien"

Frühere Untersuchungen (15,34) konnten nachweisen, daß Inulin und ^{14}C-PEG 4000 als nicht resorbierbare Substanzen zur Bestimmung der Volumenresorption am Dünndarm geeignet sind.

Diese Befunde wurden durch einen Vergleich der Einstrommenge

Abb.4 Korrelation des Trockengewichtes DW (Abszisse) mit dem Feuchtgewicht WW, der Darmfläche A und der Darmlänge L (Ordinaten von unten nach oben) anhand von Originalkurven. Die durch "+" eingezeichneten Wertepaare sind Messungen an Tieren der Gruppe II (n=49); "□" symbolisiert Wertepaare der Gruppe I (n=29). In die Punktewolke sind die entsprechenden Regressionsgeraden eingezeichnet. r bezeichnet den Korrelationskoeffizienten.



mit der Menge der gesammelten Substanz ("recovery"), der bei allen Experimenten durchgeführt wurde, überprüft. Dabei wurde die in den Darm infundierte Menge des Inulins bzw. des ^{14}C-PEG 4000 mit der aus der Sammelpipette gewonnenen Menge verglichen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen die Tabellen 1 - 3. Es ergaben sich die durchschnittlichen Wiedergewinnungsraten für Inulin zu 92,21 $\pm$ 2,96 % (n=10) und für ^{14}C-PEG 4000 zu 98,33 $\pm$ 3,96 % (n=16).

Exp.Nr.	Wiedergewinnungsrate für Inulin in %	Volumenresorption in $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$
1	93,83	3,73 $\pm$ 0,27 (3)
2	93,54	4,14 $\pm$ 0,57 (3)
3	87,78	4,72 $\pm$ 0,32 (3)
4	95,66	4,70 $\pm$ 0,57 (3)
5	89,46	3,37 $\pm$ 0,22 (3)
6	91,12	3,95 $\pm$ 0,50 (3)
7	97,30	4,12 $\pm$ 0,74 (3)
8	89,34	4,57 $\pm$ 0,82 (3)
9	92,00	3,41 $\pm$ 0,30 (3)
10	92,06	4,95 $\pm$ 0,39 (3)
$\bar{x} \pm s$	92,21 $\pm$ 2,96	4,17 $\pm$ 0,56

Tab.1: Meßwerte der Volumenflußraten unter Freiflußbedingungen (P=0 cm H_2O) am differenzierten Gewebe und der Wiedergewinnungsraten für Inulin. Die Ziffern in Klammern geben die Anzahl der Einzelbeobachtungen wieder.

Substanzen, die in das Kompartiment in das sie eingebracht werden - hier das Darmlumen -, weder durch Diffusion noch durch aktiven Transport verlassen, oder im Kompartiment metabolisiert werden, sind als Volumenmarker für dieses Kompartiment geeignet. Im Blut und in der Badlösung konnte in keinem der Versuche meßbare Konzentrationen der verwendeten Volumenmarker nachgewiesen werden. Die etwas niedrigeren Wiedergewinnungsraten für Inulin sind eventuell dadurch bedingt, daß das Polyfructosan Inulin in geringen Mengen von den Saccharidasen des Darms gespalten

wird und deshalb resorbiert werden kann. Das auf diese Weise in der "recovery" fehlende Inulin kann jedoch mit dem angewendeten Meßverfahren für Inulin im Blut nicht eindeutig bestimmt werden, da im niedrigen Konzentationsbereich eine Interferenz mit der Blutglukose besteht (17).

Damit ist für die hier vorliegende Arbeit nachgewiesen, daß sowohl Inulin als auch ^{14}C-PEG 4000 als Volumenmarker zur Bestimmung der Volumenresorption am Ileum geeignet sind.

C. Volumenresorption unter Freiflußbedingungen

Zunächst wurde mit der angegebenen Methode eine Untersuchung zur Volumenresorption in der Gruppe I (n=10) durchgeführt. Während dieser Versuche schwankte der intraluminale Druck, bedingt durch die Darmperistaltik, zwischen 0,0 und 0,5 mmHg (0,0-66,7 Pa). Diese Versuchsbedingung, ohne experimentell induzierten, transmuralen Druckgradienten, wurde als Freiflußbedingung definiert. Die Volumenresorption während der Darmpassage wurde aus dem Konzentrationsanstieg des Volumenmarkers wie folgt bestimmt.

Für einen Volumenmarker, wie dies oben sowohl für Inulin als auch für ^{14}C-PEG 4000 nachgewiesen werden konnte, gilt:

Menge des infundierten Volumenmarkers = Menge des gesammelten Volumenmarkers

oder

$$\dot{V}_E \cdot c_E = \dot{V}_A \cdot c_A \qquad \text{(Gl. 1)}$$

wobei $\dot{V}_E$ das infundierte Volumen pro Zeiteinheit
$\dot{V}_A$ das gesammelte Volumen pro Zeiteinheit
c_E die Konzentration des Volumenmarkers im infundierten Volumen
c_A die Konzentration des Volumenmarkers im gesammelten Volumen

bedeuten.

In Gleichung 1 ist $\dot{V}_E$ durch die Pumprate vorgegeben; alle anderen Größen wurden direkt gemessen. Die Konstanz der Pumprate wurde

durch eigene Eichung (jeweils n=12) überprüft. Dabei betrugen die Standardabweichungen maximal 1% des arithmetischen Mittelwertes. Da die Pumpraten somit als konstant zu betrachten sind, die Größe $\dot{V}_A$ jedoch durch intestinale Peristaltik größere Schwankungen zeigt, wurde die aus Gleichung 1 errechnete Größe $\dot{V}_A = \dot{V}_E \cdot c_E \cdot c_A^{-1}$ in die Gleichung

$$\dot{V}_R = \dot{V}_E - \dot{V}_A \qquad \text{(Gl. 2)}$$

eingesetzt.

Die Volumenresorptionsrate $\dot{V}_R$ konnte demnach mittels folgender Beziehung berechnet werden.

$$\dot{V}_R = \dot{V}_E \cdot (1 - \frac{c_E}{c_A}) \qquad \text{(Gl. 3)}$$

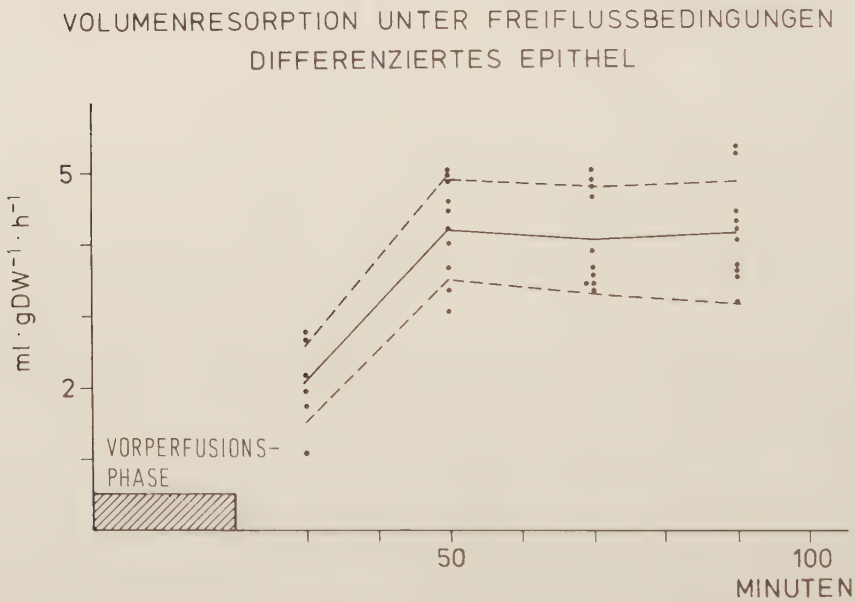


Abb.5 Zeitlicher Verlauf der Volumenresorption unter Freiflußbedingungen am differenzierten Epithel (n=10). Die durchgezogene Linie gibt die Verbindung der Mittelwerte $\bar{x}$ wieder. Der Bereich zwischen den gestrichelten Linien stellt $\bar{x} \pm s$ dar. Die erste Meßperiode (20-40 min) entspricht der Äquilibrierungsphase; danach stellt sich die Plateauphase der Resorption ein. Die Daten sind der Tab.5 entnommen.

Die auf diese Weise gewonnenen Ergebnisse von 10 Experimenten zur Volumenresorption an erwachsenen Tieren der Gruppe I zeigen Tab.1 und Abb.5. Als Perfusionslösung fand in diesen Versuchen die Lösung A_1 mit Inulin als Volumenmarker Verwendung; die entsprechende Badlösung war Lösung A. Die Volumenresorption des differenzierten Gewebes betrug unter Freiflußbedingungen $4{,}17 \pm 0{,}56$ ml·gDW^{-1}·h^{-1}.

D. Die hydrostatische, hydraulische Leitfähigkeit L_P^{hy}

In einer weiteren Versuchsserie wurden die hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeiten L_P^{hy} in den Gruppen I (n=8) und II (n=8) gemessen. Die hydrostatische, hydraulische Leitfähigkeit L_P^{hy} ist definiert als die Änderung der Nettovolumenresorption $\dot{V}_R$ pro hydrostatischer Druckänderung ΔP, also

$L_P^{hy} = \Delta\dot{V}_R/\Delta P$ [ml·cm^{-2}·h^{-1}·cm H_2O^{-1}] oder [l·m^{-2}·h^{-1}·Pa^{-1}].

Den zeitlichen Verlauf eines typischen Experiments zeigt Abb.6.

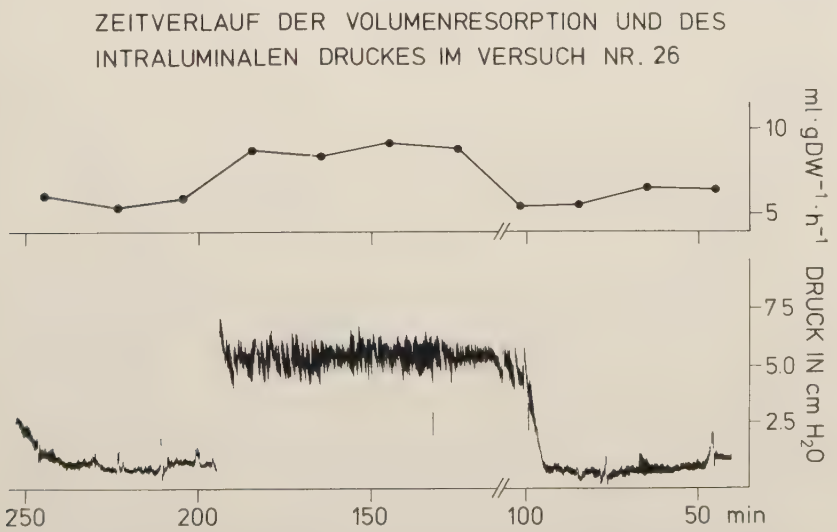


Abb.6 Zeitlicher Verlauf des Experiments Nr.26. Obere Kurve: Verlauf der Volumenresorption. Untere Kurve: Originalregistrierung des intraluminalen Druckes.

Als Perfusionslösung wurde in diesen Untersuchungen die Lösung B_1 mit ^{14}C-PEG 4000 als Volumenmarker verwendet; die entsprechende Badlösung war die Lösung B.

Die Volumenresorptionsraten V_R wurden nach der Gleichung 3 bestimmt. Die Ergebnisse der Einzelversuche sind in den Tab.2 und 3 sowie in den Abb.7 und 8 zusammengefaßt.

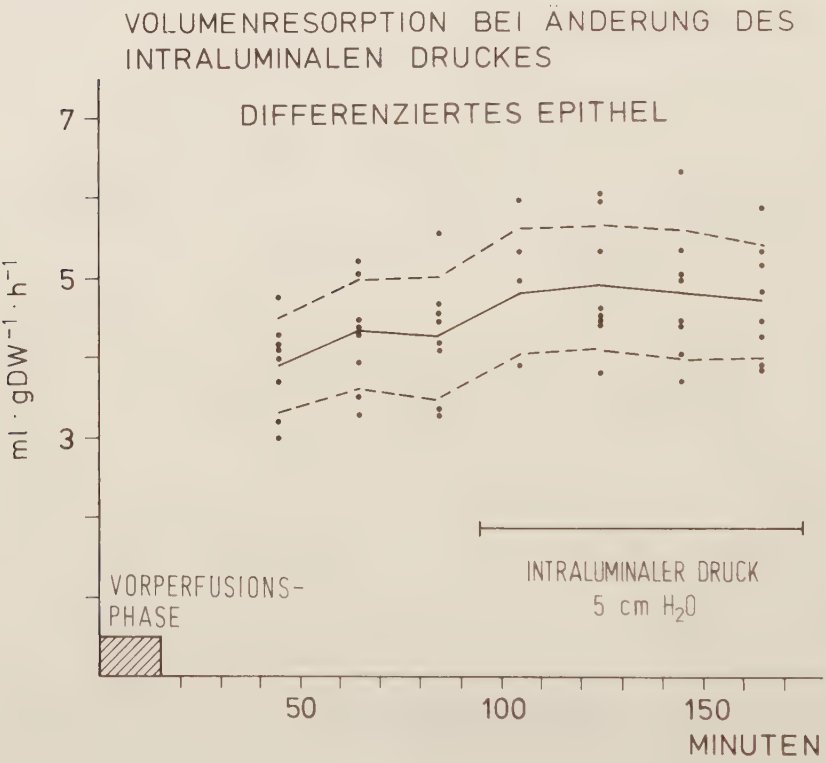


Abb.7 Zeitlicher Verlauf der Volumenresorption unter Freiflußbedingungen und bei erhöhtem intraluminalem Druck am differenzierten Epithel der Gruppe I (n=8). Die Darstellung entspricht der von Abb.5. Die Daten sind der Tab.6 entnommen.

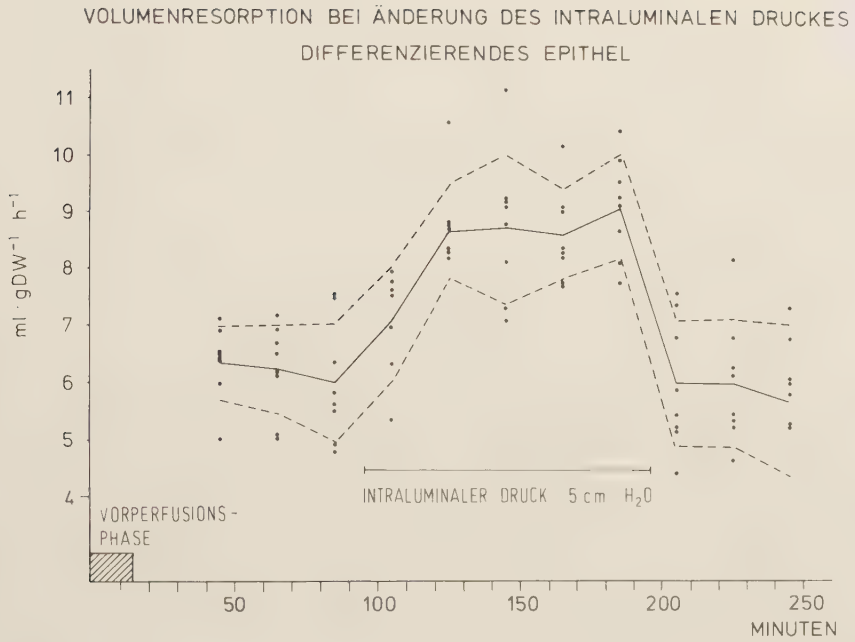


Abb.8 Zeitlicher Verlauf der Volumenresorption unter Freiflußbedingungen und bei erhöhtem intraluminalem Druck am differenzierenden Epithel der Gruppe II (n=8). Die Darstellung entspricht der von Abb.5. Die Daten sind der Tab.7 entnommen.

In der hier vorliegenden Untersuchung wurde die hydrostatische, hydraulische Leitfähigkeit für das ausgereifte Gewebe der Gruppe I als 1,35 $\pm$ 0,62 $ml \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$ (0,15 $\pm$ 0,06 $l \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot Pa^{-1}$) gemessen, während sich für das differenzierende Gewebe der Gruppe II ein Wert von 6,21 $\pm$ 1,74 $ml \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$ (0,63 $\pm$ 0,18 $l \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot Pa^{-1}$) ergab.

Eine 4-fache Varianzanalyse der Daten der Tabellen 6 und 7 mit BMDP 2V für zwei Gruppen zu je 8 Tieren mit 2 Trialfaktoren (Drücke) und 3-facher Wiederholung ergab bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $P<0,001$, daß der in den Versuchen applizierte

Tab.2 Zusammenstellung der Wiedergewinnungsraten von PEG 4000, der Volumenresorptionsraten unter Freiflußbedingungen und bei erhöhtem intraluminalem Druck und der Werte für L_P^{hy} des differenzierten Gewebes. Die Meßwerte sind als Mittelwerte, $\bar{x}$, mit den Standardabweichungen, s, angegeben; die Zahlen in Klammern geben die Anzahl der Einzelbeobachtungen wieder.

Exp. Nr.	Wiedergewinnungsrate in %	Volumenresorption bei P=0 cm H_2O in $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$	Volumenresorption bei P=5 cm H_2O in $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$	L_P^{hy} in $\mu l \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$
11	103,05	4,48 ± 0,65 (3)	5,31 ± 0,00 (3)	1,96
12	92,11	3,25 ± 0,05 (3)	3,78 ± 0,10 (3)	1,25
13	100,06	3,99 ± 0,86 (3)	4,73 ± 0,23 (3)	1,75
14	94,99	3,66 ± 0,32 (3)	4,23 ± 0,21 (3)	1,34
15	100,98	4,27 ± 0,13 (3)	4,44 ± 0,03 (3)	0,33
16	95,49	3,97 ± 0,46 (3)	4,27 ± 0,41 (3)	0,71
17	100,10	4,42 ± 0,27 (3)	4,97 ± 0,21 (3)	1,29
18	97,87	5,12 ± 0,42 (3)	6,03 ± 0,26 (3)	2,19
$\bar{x} \pm s$	98,08 ± 3,65 (8)	4,15 ± 0,57 (8)	4,71 ± 0,71 (8)	1,35 ± 0,62 (8)

Tab.3 Zusammenstellung der Wiedergewinnungsraten von PEG 4000, der Volumenresorptionsraten unter Freiflußbedingungen und bei erhöhtem intraluminalem Druck und die Werte für L_P^{hy} des differenzierenden Gewebes. Die Meßwerte sind als Mittelwerte, $\bar{x}$, mit den Standardabweichungen, s, angegeben; die Zahlen in Klammern geben die Anzahl der Einzelbeobachtungen wieder.

Exp.Nr.	Wiedergewinnungsrate in %	Volumenresorption bei P=0 cm H_2O $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$	Volumenresorption bei P=5 cm H_2O $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$	Volumenresorption bei P=0 cm H_2O $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$	L_P^{hy} in $\mu l \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$
19	99,67	5,23 ± 0,35 (3)	7,62 ± 0,27 (3)	5,23 ± 0,00 (3)	5,68
20	98,05	6,55 ± 0,68 (3)	8,29 ± 0,14 (3)	5,81 ± 0,57 (3)	5,00
21	99,07	5,64 ± 1,11 (3)	7,78 ± 0,86 (3)	5,03 ± 0,57 (3)	5,80
22	105,27	6,44 ± 0,49 (3)	8,86 ± 0,46 (3)	6,78 ± 0,62 (3)	5,32
23	98,27	5,83 ± 0,93 (3)	8,43 ± 0,34 (3)	4,34 ± 1,22 (3)	7,92
24	94,43	7,06 ± 0,56 (3)	9,05 ± 0,21 (3)	7,73 ± 0,45 (3)	3,98
25	95,48	6,76 ± 0,71 (3)	10,65 ± 0,50 (3)	6,45 ± 0,58 (3)	9,45
26	98,38	6,16 ± 0,57 (3)	8,72 ± 0,40 (3)	5,75 ± 0,35 (3)	6,53
$\bar{x}$ ± s	98,58 ± 3,24(8)	6,21 ± 0,61 (8)	8,68 ± 0,94 (8)	5,89 ± 1,08 (8)	6,21 ± 1,74 (8)

intraluminale Druck in beiden Gruppen eine signifikante Erhöhung des Volumenflusses bewirkt hat.

Ein Student t-Test für unverbundene Stichproben zeigte jedoch, daß die hydrostatische, hydraulische Leitfähigkeit des differenzierenden Gewebes der Gruppe II bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P<0,001$ höher ist als am differenzierten Gewebe der Gruppe I.

In einem weiteren Student t-Test für verbundene Stichproben an den Daten der Tab.3 ergab sich, daß die Volumenresorption, die vor Druckerhöhung bei einem intraluminalen Druck von P=0 cm H_2O, bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P<0,001$, nicht von der Volumenresorptionsrate, die nach Druckerhöhung bei einem intraluminalen Druck von P=0 cm H_2O gemessen wurde, abweicht.

Bei allen Perfusionsexperimenten, sowohl unter Freiflußbedingungen als auch unter erhöhtem intraluminalem Druck, waren die distal gesammelten Proben plasmaisoton. Die Volumenresorption am differenzierenden und am differenzierten Ileum erfolgt somit plasmaisoton.

IV. D I S K U S S I O N

A. Methode

Zur Messung der intestinalen Volumenresorption wurden bisher sehr verschiedenartige methodische Ansätze versucht. Diese lassen sich in drei Gruppen unterteilen, nämlich Untersuchungen bei intakter Blutversorgung, die hier als nicht-isolierte Präparationen bezeichnet werden, und die von der Blutversorgung abgetrennten Darmpräparationen, die als isolierte Präparationen klassifiziert werden. Die dritte Gruppe bildet eine Mukosastreifenpräparation, bei der ein isoliertes Darmstück am Mesenterialansatz aufgeschnitten und in eine der Ussingkammer ähnliche Anordnung eingespannt wird.
Sowohl an der nicht-isolierten als auch an der isolierten Präparation kann im geschlossenen System der Sackpräparation oder im offenen System mittels Perfusion gearbeitet werden. Bei nicht-isolierten, perfundierten Darmpräparationen (9,12) besteht eine Schwierigkeit darin, den Darm vor Austrocknung und Abkühlung zu schützen, ohne ihn in die Bauchhöhle zurückverlagern zu müssen. Dort besteht jedoch die Gefahr der Knickbildung an den Perfusionspipetten, vor allem bei hohen Perfusionsraten und bei erhöhtem intraluminalem Druck.
Isolierte Präparationen haben dagegen den Vorteil einer besseren Kontrollierbarkeit der experimentellen Bedingungen. Jedoch ist der Abtransport des Resorbates aus dem nicht perfundierten Kapillarnetz des Darmes nur durch Diffusion möglich. Die tatsächlichen Ionenkonzentrationen im Kapillarbett sind nicht meßbar und erst nach Diffusionsausgleich konstant zu halten.
Vergleichbare Schwierigkeiten treten auch bei der Mukosastreifenpräparation auf (8,39,41). Diese Methode ist jedoch vor allem zum Studium derjenigen Parameter geeignet, die in anderen Präparationen einer Messung nicht zugänglich sind. Auf diese Weise konnten am isolierten intestinalen Mukosastreifen die treibenden Kräfte des Volumentransportes am Ileum genau beschrieben werden. Diese Ergebnisse bedürfen womöglich einer quantitativen Überprüfung unter Bedingungen, die den Verhältnissen in vivo nahe kommen.

Dazu wurde in der vorliegenden Arbeit eine Präparation entwikkelt, welche die Gefäßversorgung des Darmepithels über das komplex gebaute Kapillarnetz der Darmzotten aufrecht erhält. Damit ist nicht nur die Substratversorgung aus dem Blut erhalten, sondern auch der Abtransport des Resorbates durch Konvektion gewährleistet. Auf diese Weise werden die an ungemischten Phasengrenzen auftretenden Phänomene auf die in vivo herrschenden Verhältnisse reduziert.
Bei der in dieser Arbeit entwickelten Methode, wird das zu untersuchende Darmstück in ein extrakorporales Bad verlagert, wodurch das peritoneale Milieu nachgeahmt werden konnte. Das Darmstück und die zuführenden Gefäße waren ständig mit physiologischer Lösung benetzt und bei einer Temperatur von 37°C gehalten. Daß diese Bedingungen nicht nur während der eigentlichen Versuchsdauer, sondern auch während der gesamten Dauer der Darmpräparation eingehalten wurden, bedarf besonderer Erwähnung, da alle früheren Untersuchungen diesen Punkt unberücksichtigt ließen.
Das zu perfundierende Darmstück wurde in dem extrakorporalen Bad so gelagert, daß es zu keinen Knickbildungen an den Perfusionspipetten kommen konnte. Nur so konnte die Identität von Einstrom- und Ausstrommenge des Volumenmarkers innerhalb einer Meßperiode erreicht werden, die für die Messung der Volumenresorption Voraussetzung ist. Zudem ist eine exakte Messung des intraluminalen Druckes über eine der Perfusionspipetten nur dann möglich, wenn zwischen den Perfusionspipetten keine Strömungsbehinderungen durch Knickbildungen auftreten. Diese Voraussetzungen konnten in der hier vorliegenden Arbeit durch direkte Beobachtung des Darmes in der Badlösung während der gesamten Versuchsdauer erfüllt werden.
Weiterhin wurde versucht, alle experimentell eingeführte Variable soweit wie möglich den physiologischen Größen anzupassen. So lag beispielsweise die Perfusionsrate entgegen allen früheren Untersuchungen mit 2,0 $ml \cdot h^{-1}$ in der Gruppe I und 1,5 $ml \cdot h^{-1}$ in der Gruppe II in einem physiologischen Bereich. Die aus der Nahrungsaufnahme resultierenden Perfusionsraten des Ileums dürften, wenn man die erhöhte Flüssigkeitsaufnahme

Tab.4 Zusammenstellung der Befunde zur Volumenresorption am Ileum für differenziertes und differenzierendes Gewebe aus der Literatur. Die in der Literatur angegebenen Werte für die Volumenresorption wurden über die Bezugsgrößenkorrelation auf die hier verwendete Bezugsgröße Trockengewicht DW umgerechnet.

Präparation	Volumenfluß $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$	Bestimmungsmethode	Perfusionsraten in $ml \cdot h^{-1}$	Autor
D I F F E R E N Z I E R T E S G E W E B E				
nicht-isoliert	7,50	Humanhämoglobin	6-24	Curran (9)
nicht-isoliert	16,1o	gravimetrisch	156	Dennhardt (12)
nicht-isoliert	4,17	Inulin	2,0	vorliegende Arbeit
nicht-isoliert	4,15	PEG-4000	2,0	vorliegende Arbeit
isoliert	11,50	Phenolrot	240	Fisher (14)
isoliert	5,20	Humanhämoglobin	6-24	Curran (10)
isoliert	7,60	gravimetrisch	-	Parsons (37)
isoliert, Sack	2,20	gravimetrisch	-	Wilson (52)
isoliert, Sack	1,36	Inulin	-	Clarkson (4)
isoliert, Sack	4,16	gravimetrisch	-	Barry (2)
isoliert, Sack	1,71	PEG-4000	-	Esposito (13)
D I F F E R E N Z I E R E N D E S G E W E B E				
nicht-isoliert	6,80	Phenolrot	12	Younoszai (55)
nicht-isoliert	6,21	PEG-4000	1,5	vorliegende Arbeit

des Neugeborenen in die Berechnung einbezieht, in beiden Gruppen etwa 0,5 $ml \cdot h^{-1}$ betragen.
Um die mit dieser Präparation erhobenen Befunde mit früheren Arbeiten vergleichen zu können, wurden alle in der Literatur aufgeführten Daten zur Volumenresorption am Ileum der Ratte zusammengestellt (Tab.4). Dazu mußten die Daten der Literatur zum Teil über die Bezugsgrößenkorrelation (Abb.4) auf die Bezugsgröße Trockengewicht DW umgerechnet werden.
Die Tab.4 zeigt, daß die mit der vorliegenden Methode gemessenen Ergebnisse innerhalb der Größenordnung bereits vorliegender Daten liegen. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß durch die zum Teil hohen Perfusionsraten (bis zu 240 $ml \cdot h^{-1}$) intraluminale Drucke entstanden sein dürften, welche den physiologischen Bereich weit übersteigen. Druckmessungen fehlen jedoch mit Ausnahme einer Arbeit (14) in allen anderen Veröffentlichungen. Eine Beeinträchtigung der Durchblutung des intestinalen Kapillarbettes durch Versuche, in denen ein intraluminaler Druck von 5 cm H_2O appliziert wurde, ist nicht anzunehmen, da der Druck in den Venolen der Darmzotten 12,8 mmHg (17,4 cm H_2O) beträgt (18).
Transepitheliale Druckgradienten von 5 cm H_2O, wie sie zur Messung der hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeit eingesetzt wurden, haben zu keiner Beeinträchtigung der Epithelfunktion geführt, da sich die Resorptionsraten nach einer Meßperiode mit erhöhtem Druck wieder auf das Ausgangsniveau einstellten (Abb.8). Ferner zeigt die während der Phase des erhöhten Druckes und danach konstante Wiedergewinnungsrate des Volumenmarkers, daß durch die temporäre Erhöhung des intraluminalen Druckes keine Änderung der Permeabilitätseigenschaften für den Volumenmarker eingetreten ist.

B. Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnte durch direkte Bestimmung der Wiedergewinnung des Volumenmarkers nachgewiesen werden, daß Inulin und ^{14}C-PEG 4000 vom Ileum der Ratte nicht resorbiert werden, wodurch die Ergebnisse früherer Untersuchungen (15,34) bestätigt werden konnten. Da in allen Perfusionsstudien die vollständige Recovery des Volumenmarkers eine notwendige Voraussetzung für die Berechnung der Volumenresorption ist (s. Kap. III. C.), sollte diese Bedingung in allen Experimenten erfüllt sein. Für die vorliegende Untersuchung trifft dies, wie aus den Tab.1,2 und 3 ersichtlich ist, zu. Die Abweichung der Wiedergewinnungsrate von 100% liegt für ^{14}C-PEG 4000 mit 1,67% (Tab.2 und 3) in dem durch den analytischen Meßfehler bedingten Bereich. Die Recovery für Inulin von 92,21% (Tab.1) stimmt mit dem in einer früheren Arbeit (34) für die Perfusionsmethode angegebenen Wert von 94,73% überein. Allerdings wurde in einigen früheren Untersuchungen (4,13,14) darauf verzichtet, die erzielte Wiedergewinnung der Volumenmarker quantitativ anzugeben.

Messungen der Volumenresorptionsrate am differenzierten Epithel des Ileums mittels der Lösungen A und A_1 ohne intraluminale Glukose ergaben eine Volumenresorptionsrate von 4,17 $\pm$ 0,56 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ (n=10). Unter Verwendung der Lösungen B und B_1 mit intraluminaler Glukose wurde die Volumenresorptionsrate zu 4,15 $\pm$ 0,57 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ (n=8) gemessen. Ein Mittelwertvergleich mit dem Student t-Test für unabhängige Meßgrößen legt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P<0,001$ die Annahme der Nullhypothese nahe, womit nachgewiesen ist, daß die Volumenresorption am Ileum bei intakter vaskulärer Perfusion von der intraluminalen Glukosekonzentration unabhängig ist. Dieses Ergebnis zeigt ferner, daß die Zunahme der Volumenresorption durch intraluminale Glukose an der isolierten, nicht durchbluteten Präparation (10,14,45) auf das erhöhte Substratangebot für den die Volumenresorption bedingenden aktiven Na^+-Transport zurückzuführen ist. In der hier durchgeführten nicht-isolierten Präparation wird der Substratbedarf für den aktiven Na^+-Transport vollständig über das Substratangebot der vas-

kulären Perfusion gedeckt.

In der hier vorliegenden Untersuchung wurde die hydrostatische, hydraulische Leitfähigkeit L_p^{hy} in der Gruppe I als 1,35 ± 0,62 $ml \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$ und in der Gruppe II als 6,21 ± 1,74 $ml \cdot cm^{-2} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$ gemessen. In der Gruppe I hat eine intraluminale Druckerhöhung von 5 cm H_2O zu einem Anstieg des Volumenflusses von 4,15 auf 4,71 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ geführt, was einen Volumenflußanstieg von 13,2% bezogen auf den Ausgangswert bei P=0 cm H_2O bedeutet. Aus der bisher einzigen Arbeit über die Abhängigkeit der Volumenresorption des Ileums vom intraluminalen Druck läßt sich eine Volumenflußerhöhung, aufgrund einer Erhöhung des intraluminalen Druckes um 5 cm H_2O, von 12,5% berechnen (19). Trotz dieser Übereinstimmung der Befunde wurde ein statistisch signifikanter Einfluß des intraluminalen Druckes auf die Volumenresorption am Ileum verneint, was auf die erhebliche Streuung der Meßwerte innerhalb der Versuchsserie zurückgeführt werden kann.

Die hier erhobenen Befunde zeigen in beiden Gruppen einen statistisch signifikanten Anstieg des Volumentransportes in Folge einer intraluminalen Druckerhöhung. Jedoch zeigen die aus dem durch hydrostatischen Druck induzierten Volumenflußanstieg errechneten hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeiten einen statistisch signifikanten Abfall im Lauf der postnatalen Entwicklung. Eine vergleichbare Reduktion der hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeit während der Ontogenese wurde auch an anderen resorbierenden Strukturen, wie dem proximalen Nierentubulus, beobachtet (26,29).

Eine Zusammenstellung der epithelialen Leitfähigkeiten des Ileums während der Ontogenese ergibt, daß sich die elektrische Leitfähigkeit im Verlauf der postnatalen Differenzierung gegenüber dem differenzierenden Epithel um 45,5% reduziert (8), während im gleichen Zeitraum die L_p^{osm} um 54% (55) und die L_p^{hy} um 88,3% gegenüber dem differenzierenden Epithel abfällt. Da, wie in Kap. I. C. gezeigt, der druckinduzierte Volumenfluß im wesentlichen über den parazellulären Weg abläuft, wohingegen der durch osmotische Kräfte induzierte Volumenfluß vorwiegend transzellulär bewegt wird (49), läßt sich aus den obigen Daten schlie-

ßen, daß die funktionell bedeutendsten Veränderungen in der postnatalen Entwicklung den parazellulären Transportweg betreffen. Zu diesem Schluß gelangen auch andere Autoren (44) aufgrund von Messungen der Na^+-Flüsse an elektrisch kurzgeschlossenen ("short-circuited") Mukosastreifen.

Unter der Annahme einer konstanten zellulären, hydraulischen Leitfähigkeit während der Ontogenese würde die parazelluläre Leitfähigkeit des differenzierenden Epithels ca. 96% der Gesamtleitfähigkeit ausmachen, gegenüber 85% beim differenzierten Epithel. Eine genauere Lokalisation dieser Veränderungen soll im folgenden versucht werden.

Unter der Voraussetzung zylindrischer Poren in der Interzellularbrücken (6) läßt sich das Hagen-Poiseuille'sche Gesetz auf den parazellulären Weg anwenden. Die hydrostatische Leitfähigkeit dieser Poren ergibt sich dann zu

$$L_p = \frac{\pi \cdot r^4 \cdot t}{8 \cdot \eta \cdot l} \qquad [\frac{m^3}{Pa}]$$

wobei π die Kreiszahl, r der Radius und l die Länge der Pore und η die Viskosität der parazellulär resorbierten Flüssigkeit bezeichnet. Die Abnahme der hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeit im Lauf der postnatalen Entwicklung kann danach durch eine Verringerung der Porenzahl, eine Reduktion des Porenradius oder durch eine Vergrößerung der Porenlänge bedingt sein. Ultrastrukturuntersuchungen am proximalen Nierentubulus nach Perfusion mit elektronendichten Mikroperoxidasepartikeln lassen vermuten, daß sich der Durchmesser der parazellulären Poren im Lauf der postnatalen Entwicklung verringert. Denn nur für das sich differenzierende Gewebe war es bei erhöhtem intraluminalem Druck möglich, die Mikroperoxidasepartikel bis in den basolateralen Raum zu verfolgen (26,29).

Da die apikalen tight junctions den limitierenden Faktor für den parazellulären Flüssigkeitstransport darstellen, weisen die vorliegenden Ergebnisse darauf hin, daß diese Interzellularbrükken ihre druckabhängige Wasserleitfähigkeit während der postna-

talen Entwicklung reduzieren. Diese Hypothese sowie die Bedeutung der hier erstmals nachgewiesenen Änderung der hydrostatischen, hydraulischen Leitfähigkeit im Verlauf der Ontogenese für die Interpretation intestinaler Funktionsstörungen des Neugeborenen bedürfen noch weiterer Untersuchungen.

V. A N H A N G

In diesem Abschnitt sind die Meßdaten der Einzelversuche in drei Tabellen zusammengestellt. Sie bilden die Grundlage für die Abb. 5, 7 und 8 sowie für die statistischen Berechnungen.

Tab.5 Meßdaten zur Volumenresorption des differenzierten Gewebes unter Freiflußbedingungen (P=0 cm H_2O).

Exp.Nr.	Volumenresorption in ml $gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ in den Zeitintervallen			
	20-40 min	40-60 min	60-80 min	80-100 min
1	2,64	4,04	3,57	3,57
2	2,07	4,47	3,48	4,47
3	-	4,90	4,90	4,34
4	-	5,03	5,03	4,04
5	2,04	3,36	3,59	3,16
6	-	4,24	3,37	4,24
7	2,68	4,94	3,90	3,53
8	2,22	3,70	4,70	5,31
9	1,06	3,09	3,48	3,67
10	1,75	4,60	4,86	5,38
$\bar{x}$ (10)	2,06	4,24	4,09	4,17
s	0,55	0,68	0,69	0,74

Tab.6 Meßdaten zur L_p-Bestimmung des differenzierten Gewebes.

Exp.Nr.	Volumenresorption in $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ in den Zeitintervallen						
	P=0 cm H_2O			P=5 cm H_2O			
	35-55 min	55-75 min	75-95 min	95-115 min	115-135 min	135-155 min	155-175 min
11	4,10	5,23	4,10	-	5,31	5,31	5,31
12	3,19	3,27	3,28	3,88	3,77	3,68	3,88
13	3,01	4,34	4,61	-	4,48	4,93	4,78
14	3,71	3,96	3,32	4,01	4,42	4,01	4,25
15	4,27	4,39	4,14	-	4,46	4,42	4,47
16	3,97	3,51	4,42	4,94	4,59	4,41	3,80
17	4,12	4,48	4,66	5,33	6,04	5,00	5,16
18	4,74	5,05	5,58	5,95	5,93	6,32	5,84
$\bar{x}$ (8)	3,89	4,28	4,26	4,82	4,88	4,76	4,69
s	0,57	0,68	0,75	0,88	0,80	0,83	0,72

Tab.7 Meßdaten zur L_p-Bestimmung des differenzierenden Gewebes.

Exp.Nr.	Volumenresorption in $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ in den Zeitintervallen										
	P=0 cm H_2O			P=5 cm H_2O					P=0 cm H_2O		
	35-55 min	55-75 min	75-95 min	95-115 min	115-135 min	135-155 min	155-175 min	175-195 min	195-215 min	215-235 min	235-255 min
19	5,03	5,03	5,63	-	7,78	7,31	7,78	7,78	5,23	5,23	5,23
20	7,14	6,71	5,81	7,56	8,37	8,13	8,37	9,14	5,17	6,27	6,00
21	6,92	5,09	4,92	6,35	8,77	7,07	7,76	9,26	4,38	5,44	5,27
22	5,98	6,96	6,37	7,79	8,34	9,20	9,03	8,16	7,40	6,16	6,78
23	6,54	6,16	4,78	7,00	8,23	8,82	8,23	9,97	5,40	4,62	3,00
24	6,44	7,21	7,52	7,66	8,82	9,23	9,09	9,64	7,60	8,23	7,36
25	6,53	6,19	7,55	7,98	10,59	11,18	10,18	10,47	6,79	6,79	5,78
26	6,45	6,52	5,50	5,36	8,76	9,10	8,30	8,69	5,86	5,36	6,04
$\bar{x}$ (8)	6,38	6,23	6,01	7,10	8,71	8,76	8,59	9,14	5,98	6,01	5,68
s	0,64	0,81	1,06	0,95	0,84	1,30	0,81	0,91	1,16	1,13	1,30

VI. Z U S A M M E N F A S S U N G

Mit einer neuentwickelten Perfusionsmethode wurden ileale Darmsegmente bei intakter Blutversorgung mit plasmaisotoner Elektrolytlösung perfundiert. Die Experimente wurden an zwei Gruppen von Wistar-Ratten durchgeführt.
Gruppe I: Körpergewicht 140-160 g, differenziertes Epithel
Gruppe II: Körpergewicht 40-60 g, differenzierendes Epithel.
Die Volumenresorptionsraten wurden aus dem Konzentrationsanstieg der aus dem Darm nicht resorbierbaren Substanzen Inulin und ^{14}C-PEG 4000 bestimmt.

Die Messung der Volumenflußrate in Gruppe I ergab unter Freiflußbedingungen, d. h. einem intraluminalem Druck von 0,0-0,5 mmHg (0,0-66,7 Pa), einen Wert von 4,15 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ (n=8). Die Volumenflußrate unter Freiflußbedingungen bestimmte sich in Gruppe II zu 6,21 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ (n=8). Nach drei Meßperioden bei freiem Fluß wurde der intraluminale Druck um 5 cm H_2O (490,3 Pa) erhöht. Die Volumenresorptionsraten betrugen nun 4,71 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ in Gruppe I und 8,68 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1}$ in Gruppe II. Aus der Änderung der Volumenresorptionsrate pro intraluminaler Druckerhöhung errechneten sich die hydrostatische, hydraulische Leitfähigkeiten L_P^{hy} in Gruppe I zu 1,35 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$ und zu 6,21 $ml \cdot gDW^{-1} \cdot h^{-1} \cdot cm\ H_2O^{-1}$ in Gruppe II.

Diese Messungen zeigen, daß
1. die L_P^{hy} in Gruppe II bei $P<0,001$ höher als in Gruppe I ist,
2. der Volumentransport am Ileum in beiden Gruppen vom intraluminalen, hydrostatischen Druck abhängig ist.

Diese Reduktion der L_P^{hy} im Verlauf der postnatalen Entwicklung ist ein Hinweis auf funktionelle Veränderungen des parazellulären Transportweges im Lauf der Ontogenese.

VII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Armstrong, W. McD., Byrd, B. J., Hamang, P. M.
Energetic adequacy of Na gradients for sugar accumulation in epithelial cells of small intestine.
Biochim. Biophys. Acta 330: 237-241, 1973

2. Barry, B. A., Matthews, J., Smyth, D. H.
Transfer of glucose and fluid by different parts of the small intestine of the rat.
J. Physiol. 157: 279-288, 1961

3. Blickenstaff,D.D., Bachmann,D.M., Steinberg,M.E., Youmans,W.B.
Intestinal absorption of sodium chloride solutions as influenced by intraluminal pressure and concentration.
Am. J. Physiol. 168: 303-310, 1952

4. Clarkson, T. W., Rothstein, A., Cross, A.
Transport of monovalent anions by isolated small intestine of the rat.
Am. J. Physiol. 200: 781-788, 1961

5. Claude, P., Goodenough, D. A.
Fracture faces of zonulae occludentes from "tight" and "leaky" epithelia.
J. Cell Biol. 58: 390-400, 1973

6. Claude, P.
Morphological factors influencing transepithelial permeability: A model for the resistance of zonula occludens.
J. Membrane Biol. 39: 219-232, 1978

7. Cohnheim, O.
Versuche am isolierten überlebenden Dünndarm.
Z. Biol. 38: 419-432, 1899

8. Cooke, H. J., Dawson, D. C.
Transport characteristics of isolated newborn rabbit ileum.
Am. J. Physiol. 234: E257-E262

9. Curran, P. F., Solomon, A. K.
Ion and water fluxes in the ileum of rats.
J. Gen. Physiol. 41: 143-167, 1957

10. Curran, P. F.
Na, Cl, and water transport by rat ileum in vitro.
J. Gen. Physiol. 43: 1137-1148, 1960

11. Curran, P. F., Macintosh, J. R.
A model system for biological water transport.
Nature 193: 347-348, 1962

12. Dennhardt, R., Haberich, F. J.
Resorptions- und Sekretionsstudien am Darm.
V. Einfluß des intraluminalen Drucks auf die Wasserresorption am Dünndarm wacher Ratten.
Z. ges. exp. Med. 156: 151-156, 1971

13. Esposito, G., Csaky, T. Z.
Water absorption and swelling in the rat small intestine in vitro.
Pflügers Arch. 369: 75-78, 1977

14. Fisher, R. B.
The absorption of water and of some small solute molecules from the isolated small intestine of the rat.
J. Physiol. 130: 655-664, 1955

15. French, A. B., Brown, I. F., Good, C. J., Mc Leod, G. M.
Comparison of phenol red and polyethylenglycol os non-absorbable markers for the study of intestinal absorption in humans.
Am. J. dig. Dis. 13: 558-564, 1968

16. Frizzell, R. A., Schultz, S. G.
Ionic conductance of extracellular shunt pathway in rabbit ileum: Influence of shunt on transmural sodium transport and electrical potential differences.
J. Gen. Physiol. 59: 318-346, 1972

17. Führ, J., Kaczmarczyk, J., Krüttgen, C. D.
Eine einfache colorimetrische Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-Clearance-Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern.
Klin. Wschr. 33: 729-730, 1955

18. Gore, R.W., Bohlen, H. G.
Microvascular pressures in rat intestinal muscle and mucosal villi.
Am. J. Physiol. 233: H685-H694, 1977

19. Hakim, A. A., Lifson, N.
Effects of pressure on water and solute transport by dog intestinal mucosa in vitro.
Am. J. Physiol. 216: 276-284, 1969

20. Hamburger, H. J.
Über den Einfluss des intraluminalen Druckes auf die Resorption im Dünndarme.
Arch. f. Anat. u. Physiol. (Abt. Physiol.): 428-464, 1896

21. Heidenhain, R.
Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut.
Arch. ges. Physiol. 43, Suppl.: 1-103, 1888

22. Heidenhain, R.
Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm.
Pflügers Arch. 56: 579-631, 1894

23. Höber, R.
Ueber Resorption im Darm.
Arch. ges. Physiol. 86: 199-214, 1901

24. Horster, M., Lewy, J. E.
Filtration fraction and extraction of PAH during neonatal period in the rat.
Am. J. Physiol. 219: 1061-1065, 1970

25. Horster, M., Valtin, H.
Postnatal development of renal function: Micropuncture and clearance studies in the dog.
J. Clin. Invest. 50: 779-795, 1971

26. Horster, M., Larsson, L.
Mechanismus of fluid absorption during proximal tubule development.
Kidney Intern. 10: 348-363, 1976

27. Horster, M.
Principles of nephron differentiation.
Am. J. Physiol. 235: F387-F393, 1978

28. House, C. R.
Water transport in cells and tissues.
Edward Arnold, London 1974

29. Larsson, L., Horster, M.
Ultrastructure and net fluid transport in isolated perfused developing proximal tubules.
J. Ultrastruct. Res. 54: 276-285, 1976

30. Lieberkühn, J. N.
De fabrica et actione villorum intestinorum tenuium.
Diss. anat. physiol. Leyden, 1747

31. Loeschke, K., Bentzel, C. J., Csáky, T. Z.
Asymmetry of osmotic flow in frog intestine: Functional and structural correlation.
Am. J. Physiol. 218: 1723-1731, 1970

32. Lorenz-Meyer, H., Köhn, R., Rieken, E. D.
Comparison of different morphometric methods to estimate the surface of the rat intestinal mucosa. Their relationship to intestinal function.
Histochemistry 49: 123-131, 1976

33. Martínez-Palomo, A., Erlij, D.
Structure of tight junctions in epithelia with different permeability.
Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 72: 4487-4491, 1975

34. Miller, D. L., Schedl, H. P.
Nonabsorbed indicators: A comparison of phenol red and inulin-^{14}C and effects of perfusion technique.
Gastroenterology 62: 48-55, 1972

35. Murer, H., Ammann, E., Biber, J., Hopfer, U.
The surface membrane of the small intestinal epithelial cell. I. Localization of adenyl cyclase.
Biochim. Biophys. Acta 433: 509-519, 1976

36. Nellans, H. N., Schultz, S. G.
Relations among transepithelial sodium transport, potassium exchange, and cell volume in rabbit ileum.
J. Gen. Physiol. 68: 441-463, 1976

37. Parsons, D. S., Wingate, D. L.
The effect of osmotic gradients on fluid transfer across rat intestine in vitro.
Biochim. Biophys. Acta 46: 170-183, 1961

38. Sackin, H., Boulpaep, E. L.
Models for coupling of salt and water transport. Proximal tubular reabsorption in necturus kidney.
J. Gen. Physiol. 66: 671-733, 1975

39. Schultz, S. G., Zalusky, R.
Ion transport in isolated rabbit ileum. I. Short-circuit current and Na fluxes.
J. Gen. Physiol. 47: 567-584, 1964

40. Schultz, S. G., Zalusky, R., Gass Jr., A. E.
Ion transport in isolated rabbit ileum. III. Chloride fluxes.
J. Gen. Physiol. 48: 375-378, 1964

41. Schultz, S. G., Curran, P. F., Chez, R. A., Fuisz, R. E.
Alanine and sodium fluxes across mucosal border of rabbit ileum.
J. Gen. Physiol. 50: 1241-1260

42. Schultz, S. G.
The role of paracellular pathways in isotonic fluid transport.
Yale J. Physiol. 50: 99-113, 1977

43. Schultz, S. G.
Sodium-coupled solute transport by small intestine: A status report.
Am. J. Physiol. 233: E249-E254, 1977

44. Shepherd, R. W., Hamilton, J. R., Gall, D. G.
The postnatal development of sodium transport in the proximal small intestine of the rabbit.
Pediat. Res. 14: 250-253, 1980

45. Smyth, D. H., Taylor, C. B.
Transfer of water and solutes by an in vitro intestinal preparation.
J. Physiol. 136: 632-648, 1957

46. Starling, E. H.
On the absorption of fluids from the connective tissue spaces.
J. Physiol. 19: 312-326, 1896

47. Stirling, C. E.
Radioautographic localization of sodium pump sites in rabbit intestine.
J. Cell Biol. 53: 704-714, 1972

48. Ullrich, K. J., Frömter, E., Murer, H.
Prinzipien des epithelialen Transportes in Niere und Darm.
Klin. Wschr. 57: 977-991, 1979

49. Van Os, C. H., Wiedner, G., Wright, E. M.
Volume flows across gallbladder epithelium induced by small hydrostatic and osmotic gradients.
J. Membrane Biol. 49: 1-20, 1979

50. Visscher,M.B., Varco,R.H., Carr,C.W., Dean,R.B., Erickson,D.
Sodium ion movement between the intestinal lumen and the blood.
Am. J. Physiol. 141: 488-505, 1944

51. Wells, H. S.
The passage of materials through the intestinal wall. I. The relation between intra-intestinal pressure and the rate of absorption of water.
Am. J. Physiol. 99: 209- 220, 1931

52. Wilson, T. H., Wiseman, G.
The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface.
J. Physiol. 123: 116-125, 1954

53. Wisser, J., Horster, M.
In vitro perfused, non-isolated small intestine: Ontogeny of transmural hydraulic permeability.
Pflügers Arch. 373: 205-208, 1978

54. Wright, E. M., Smulders, A. P., Tormey, J. McD.
The role of the lateral intercellular spaces and solute polarization effects in the passive flow of water across the rabbit gallbladder.
J. Membrane Biol. 7: 198-219, 1972

55. Younoszai, M. K., Sapario, R. S., Laughlin, M.
Maturation of jejunum and ileum in rats. Water and electrolyt transport during in vivo perfusion of hypertonic solutions.
J. Clin. Invest. 62: 271-280, 1978

56. Zink, H., Horster, M.
Maturation of diluting capacity in loop of Henle of rat superficial nephrons.
Am. J. Physiol. 233: F519-F524, 1977

D A N K S A G U N G

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. M. Horster für die freundliche Überlassung des Themas und die unermüdliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit bedanken.

Für die Ratschläge zur statistischen Aufarbeitung des Datenmaterials und die Durchführung der Varianzanalyse bin ich Herrn Dr. Dirschedl vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Statistik und Biomathematik, München-Klinikum Großhadern zu Dank verpflichtet.

L E B E N S L A U F

Name	Josef Wisser
Geburtstag und -ort	12. März 1954, Hindelang
Glaubensbekenntnis	römisch-katholisch
Eltern	Martin Wisser und Ehefrau Anna, geb. Filser
Beruf des Vaters	Kaufmann
Schulbildung	1960-1966 Volksschule in Bad Oberdorf 1966-1970 Realschule in Sonthofen 1970-1973 Gymnasium in Kempten 1973 Abitur am Allgäu-Gymnasium in Kempten
Studium	1973-1980 Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München Seit 1975 Stipendiat des Cusanuswerks Im Studienjahr 1977/78 Studienaufenthalt an der Medical Faculty of the University of Glasgow
Wiss. Ausbildung	Seit 1976 wissenschaftliche Ausbildung am Physiologischen Institut der Universität München (Vorstand: Prof. Dr. K. Thurau)
Student. Aktivitäten	Organisation von Tagungen der Fachschaft Medizin im Cusanuswerk zu den Themen "Organtransplantation" (1977) und "Prä-natale Medizin" (1980)
Prüfungen	1975 Ärztliche Vorprüfung 1976 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1979 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 1980 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung Am 5. Mai 1980 Approbation als Arzt Am 23. Juli 1980 ECFMG Examen